

**Experimenteller Beitrag
zur Deutung therapeutischer
Novocain-Wirkungen**

Gerhard Schley

1961



Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Experimenteller Beitrag
zur Deutung therapeutischer
Novocain-Wirkungen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gerhard Schley
aus Essen

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Professor Dr. R. v. WERZ
Korreferent:	Professor Dr. Dr. A. W. FORST
Dekan:	Professor Dr. Dr. H. EYER

Tag der mündlichen Prüfung: 25.7.1961



INHALTSÜBERSICHT

EINLEITUNG

EXPERIMENTELLER TEIL

A. Plasmaesterase-Bestimmung vor und nach Novocainzufuhr beim Kaninchen

1. Titrationsmethode

Beschreibung der Methode

Ergebnisse

2. Manometrische Methode

Beschreibung der Methode

Ergebnisse

3. Spektrophotometrische Methode

Untersuchung zur Methode

B. Plasmaesterase-Bestimmung vor und nach Novocainzufuhr beim Menschen

Zur Methode

Ergebnisse

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

ZUSAMMENFASSUNG

LITERATURVERZEICHNIS

LEBENS LAUF

Nachdem das 1905 eingeführte Novocain während eines halben Jahrhunderts seine beherrschende Stellung als "das" Lokalanästhetikum aufrechtzuerhalten vermocht hat (bis zum Jahre 1947 betrug allein die Zahl der Publikationen über Novocain 34 000 (62), wurde ihm diese Stellung erst in jüngster Zeit durch Stoffe aus der Reihe des Acetanilids (Typus des Lidocains) streitig gemacht. Eigenartigerweise vermochte es jedoch im gleichen Masse wie seine Bedeutung als Lokalanästhetikum zurückging, erneut andersartige Bedeutung zu erlangen. Zwar hatten einzelne Autoren schon in der Frühzeit der Novocainära entzündliche Zustände durch periphere Blockade sensibler Leitungsbahnen zu heilen vermocht (45) (72) (73), aber in grossem Umfang fand die Infiltration erkrankter Organe zu Heilzwecken erst kurz vor und während des 2. Weltkrieges Eingang in die Behandlung von Erkrankungen des Bewegungsapparates (Myalgien bzw. Myogelosen, Arthrosen, Periarthriden etc. (27) (52) (81) (82), in die Therapie neuralgiformer Schmerzzustände (49) (80) und nicht zuletzt schliesslich in die Behandlung der verschiedenen Durchblutungsstörungen (6) (27) (34) (58), in die sich Chirurgie und Innere Medizin teilen.

Wenn sich auch ein umfangreiches Schrifttum mit Versuchen zur Erklärung dieser Heileffekte befasst hat und dabei das Schwergewicht abwechselnd auf verschiedene Faktoren gelegt wurde (Aufhebung von Axonreflexen und schmerzbedingter Gefässkontraktion bzw. Gewebshypoxie (20); Ausschaltung pathogener neuraler Störungsfelder (SPERANSKY); unmittelbar celluläre "antiphlogistische" Effekte im Sinne der Membrandichtung (31), so begegnet doch die Deutung all dieser lokalen Behandlungserfolge kaum grundsätzlichen Schwierigkeiten.

Auch das in den klinischen Erfahrungen oft festgestellte Andauern des Heilerfolges über die Anästhesiedauer hinaus lässt sich bei der örtlichen Novocaintherapie (z. B. als Unterbrechung eines circulus vitiosus, Wiederherstellung normaler Durchblutungsverhältnisse, Entfernung örtlicher Stoffwechselprodukte) durchaus noch im Rahmen geläufiger pathogenetischer Arbeitshypothesen verstehen.

Wesentlich schwieriger musste indessen die Deutung jener therapeutischen Novocainwirkungen fallen, wie sie nach intravenöser Injektion beobachtet bzw. nach parenteraler Zufuhr fern vom Erkrankungsort gesehen wurden. Zwar lassen sich die beschriebenen Erfolge bei Spasmen des Magen-Darmtraktes (27) (58), Ureters und der Gallenblase (27) noch zwanglos als periphere Spasmodolyse glattemuskulärer Organe verstehen und auch dosimetrisch auf entsprechende Tierversuche (s. ZIPF (83) beziehen, wobei auch der gesicherte zentralanalgetische Effekt, der schon nach 4 mg/kg i. v. eintritt (83), einen - allerdings schwer abgrenzbaren - Anteil an dem Heilerfolg haben mag. Umso fragwürdiger wird aber die Deutung der klinischen Wirkungen, sofern sie als gesichert gelten dürfen, bei Krankheitszuständen wie Asthma bronchiale (6) (27) (53) (58) (69), Ulcera

ventriculi und duodeni (53) (26), bei allergischen Manifestationen (74) und altersbedingten Beschwerden (13) (14) (15) (16) (22) (24) (56) (57) (65), weil hier die genannten resorptiven Novocainwirkungen für die Deutung der therapeutischen Effekte mindestens allein nicht ausreichen. Aus diesem Grunde sind denn auch zur Deutung therapeutischer Novocainwirkungen verschiedene Arbeitshypothesen erörtert worden. So hat man besonders zur Erklärung "antiphlogistischer" Effekte gewisse, besonders von FLECKENSTEIN (31) hervorgehobene Grundwirkungen des Novocains und anderer Lokalanästhetika herangezogen, die vor allem in einer "Stabilisierung" der Membran im Sinne einer anelektrotonischen calciumähnlichen "Abdichtung" bzw. in einer Schutzwirkung gegenüber depolarisierenden Einflüssen (Acetylcholin, Veratrin, Nicotin) bestehen sollen. Bei diesem wie bei vielen anderen Erklärungsversuchen zog man oft nicht ausreichend in Betracht, ob die therapeutisch erreichbaren Konzentrationen mit denen im Tierversuch oder gar am isolierten Organ festgestellten auch tatsächlich vergleichbar sind. Deshalb weist ZIPF (83) in seiner Übersichtsarbeit mit Recht darauf hin, es sei "völlig sinnlos", bei der Deutung therapeutischer Erfolge experimentelle Wirkungen heranzuziehen, die nur mit toxischen Dosen erzielt wurden. Ein Teil der "in vitro-Ergebnisse" gerate zu Unrecht "durch die von Autor zu Autor schrumpfenden Literaturzitate in den guten Ruf, am ganzen Tier oder gar Menschen gewonnen zu sein." Im Sinne pharmakologischer Kritik fordert er daher mit Recht, "ein dosimetrisches Filter" einzulegen, auf dem diejenigen experimentellen Befunde zurückbleiben, die nur von toxikologischem Interesse sind.

Auf eine Art Membrandichtung im Sinne der beschriebenen zellulären Grundwirkung führt man gern auch die antiallergische Wirkung des Novocains (31) und seine zuerst von EICHHOLTZ (29) beschriebene Fähigkeit zur Erhöhung der Kapillarresistenz zurück, wobei es nicht entscheidend ist, dass letztere Wirkung heute einem Spaltprodukt des Novocains, nämlich der p-Aminobenzoesäure, zugeschrieben werden muss (63).

Es lag nahe, für die Heilwirkungen beim Asthma bronchiale, dem Ulcus und den allergischen Zuständen eine Beeinflussung der vegetativen Gleichgewichtslage durch das Novocain verantwortlich zu machen. An experimentellen Beobachtungen, die eine solche möglich erscheinen liessen, fehlte es nicht. So ist die Hemmung der Cholinesterase durch die Lokalanästhetika, wie sie AMMON und ZIPF (7) (8) erstmals feststellten, häufig in diesem Sinn verwertet worden, bzw. wurde aus diesem Grunde das Novocain als Parasympathicomimeticum angesprochen (KUSCHINSKI (55)). Auch andere Autoren (HAGEDORN (33), DITTMAR (27), JENNING (46) u. a. zogen z. T. aus den Gefässwirkungen, der negativ chronotropen Herzwirkung des Novocains und seiner Steigerung der HCl-Sekretion - zweifellos etwas voreilig - den gleichen Schluss auf eine "sympathicus-dämpfende" Wirkung des Novocains. Selbst in jüngster Zeit hat LÜTH (58) versucht, die auch von ihm bestätigten vitalisierenden Wirkungen in der Geriatrie (ASLAN (13) (14) (15) (16) auf eine Förderung der körpereigenen Cholin- und Acetylcholinsynthese zurückzuführen.

Selbst wenn man ausser acht lassen wollte, dass im höheren Alter eine Abnahme der Cholinesteraseaktivität gefunden worden ist (41), ebenso wie bei Allergikern (5), spricht auch sonst nur wenig x) für die Auffassung einer parasympathischen Wirkung des Procains, vieles aber für das Gegenteil. So hatten schon MANCKE, MASUCH und ORZECOWSKI (58) für das Asthma bronchiale geltend gemacht, es sei "nicht leicht einzusehen, dass dabei gerade die Zufuhr eines Parasympathicomimeticums Erfolg haben" sollte. Derselbe Einwand wäre auch im Hinblick auf die Beeinflussung des Ulcusleidens, von Darmspasmen und nicht zuletzt allergischer Zustände (s.o.) angebracht, die bekanntlich durch adrenergische Stoffe entscheidend gebessert werden. Mit wesentlich grösserer Berechtigung ist daher auch von anderen Autoren (6) (66) (69) die therapeutische Novocainwirkung als Förderung des Sympathicotonus gedeutet worden. So gingen MANCKE und ORZECOWSKI (59) von der bekannten Erfahrung aus, dass Novocain (ebenso wie Cocain) die Wirksamkeit des Adrenalins steigert (s. auch ZIPF (83). Und zwar tritt diese Verstärkung der pressorischen Adrenalinwirkung beim Menschen schon bei Dosen von 5 mg/kg i. v. in Erscheinung, während die Anti-Acetylcholinwirkung - entgegen der Meinung von EICHHOLTZ (29) - erst nach hohen Dosen (20 mg/kg i. v.) (s. ZIPF (83)) beobachtet wird. Die vorerwähnten Autoren (59) bemerken deshalb: "Wenn man annimmt, dass durch diese Sensibilisierung der peripheren Sympathicusendigungen die Wirksamkeit des körpereigenen Adrenalins erhöht wird, dann wird auch die asthmolytische Wirkung intravenös zugeführten Novocains verständlich." In gleicher Richtung könnte es sich theoretisch auch auswirken, dass parasympathische Ganglien schon von kleinen Procaindosen (ab 2 mg/kg i. v.) blockiert werden im Gegensatz zu den sehr viel resistenteren sympathischen Synapsen (83). Auch die endoanästhetische Wirkung auf die Carotissinusrezeptoren wirkt sich nach ZIPF (83) wie eine Carotisabklemmung aus, weshalb der Autor es für denkbar hält, "dass ein Teil der sog. sympathicomimetischen Wirkungen des Procains sich einfach aus einer Dämpfung dieser Rezeptoren, ganz allgemein aber auch seitens anderer vagal-tonisierender Rezeptoren erklärt."

Alle bisher erwähnten Deutungsversuche für therapeutische Novocainwirkungen leiden, selbst soweit sie dosimetrisch gut unterbaut sind, an dem gemeinsamen Mangel, dass sie die rasche Verseifung des Procains durch das Plasma (19) (21) (50), wie sie zuerst BURGESS und KEELE (21) beschrieben, nicht berücksichtigen und daher nicht erklären können, dass die therapeutischen Wirkungen die Anwesenheit des Procains oft weit überdauern. Diese Überlegung musste notwendig die Aufmerksamkeit auf die Spaltprodukte des Novocains lenken. Sind doch bereits in den ersten Minuten etwa 40 % der Gesamtmenge an Novocain gespalten, nach 30 Minuten ist praktisch kein ungespaltenes Novocain mehr nachweisbar, die

x) so die "adrenolytische Wirkung von Novocain (R) und Panthesin (R) an den Nierengefässen (68) bzw. die flüchtige und schwache antiadrenergische Gefässwirkung (54), die von der Förderung der pressorischen Adrenalinwirkung weit überdeckt wird.

Spaltprodukte hingegen noch über viele Stunden (35) (36). Während von diesen die p-Aminobenzoesäure für die Erklärung von Spätwirkungen ernstlich kaum in Betracht kommen dürfte (die "biokatalytischen" Effekte, die dem von ASLAN (15) "Vitamin H₃" genannten Stoff zugesprochen werden, sind im Gegensatz zu der gut begründeten kapillardichtenden Wirkung (63) rein spekulativer Natur), hat HAUSCHILD (34) (H. MARX und H. HASSE u. a. (61)) gezeigt, dass der Diaethylaminoalkohol, ähnlich wie einige seiner Homologen, eine so ausgeprägte gefässerweiternde bzw. spasmolytische Wirkung besitzt, dass er schon während des 2. Weltkrieges unter dem Namen "Dehydasaal" (R) erfolgreiche therapeutische Anwendung bei peripheren Durchblutungsstörungen fand. "Wenn auch genügend experimentelle und klinische Beweise in der Literatur noch nicht zu finden sind," so sei doch nach HAUSCHILD (34) "eine Deutung zahlreicher Novocainwirkungen als durch das Spaltprodukt bedingt äusserst wahrscheinlich." Auch SOEHRING (70) ist geneigt, einen Teil der resorptiven Novocainwirkungen auf das entstehende Diäthylaminoäthanol zurückzuführen ^{x)}, (u. a. auch P. LÜTH (56), H. MARX und H. HASSE (61), B. ROSENBERG, H. J. KAYDEN, P. A. LIEF, L. C. MARK, J. M. STEELE und B. B. BRODIE (67)).

Eine Beziehung zwischen dem Diäthylaminoäthanol und den biologischen Vorstufen der Cholin- und Acetylcholonsynthese im Organismus, dem Aminoäthanol bzw. dem Mono- und Dimethylaminoäthanol ist nach LÜTH (57) in Betracht zu ziehen.

TABELLE 1 Procainwirkung

örtliche Wirkung	1. Phase	ganzes Molekül	Lokalanästhesie
			Vasokonstriktorenlähmung
			Anti-Cholinesterasewirkung
			Anti-Aminooxydasewirkung
			Anti-Acetylcholinwirkung
			Anti-Adrenalinwirkung
			zentr. Analgesie, Endoästhesie
	2. Phase	Diäthylamino- äthanol	Adrenalininsensibilisierung
			Spasmolyse
			Gefässerweiterung
Allgemein- wirkung		p-Aminobenzoe- säure	Adrenalininsensibilisierung
			Spasmolyse
			Kapillardichtung (antiphlogistisch)

^{x)} Damit würde nach HAUSCHILD (35) auch übereinstimmen, dass Pantocain, welches nur in viel kleinerer Dosis angewendet werden kann, nicht in der Lage zu sein scheint, Novocain therapeutisch zu ersetzen.

In den letzten Jahren wurde das Novocain von ASLAN und PARHON als Geriatricum propagiert (13) (14) (15) (16) (22) (24) (56) (57) (65). Durch die über Monate fortzuführende Injektionsbehandlung soll eine allgemeine Vitalisierung erfolgen, die sich sowohl auf das ZNS (Psyche, Sensorium, Antriebssteigerung, Schlaf, Interesse, Stimmung, Parkinsonismus, Gedächtnis, Konzentration) wie auf die Peripherie erstreckt (Trophik der Haut und Gelenke, Rückbildung von sklerotischen Gefässeränderungen, Haarwuchs und Haarpigmentierung). Diese Wirkung, die von verschiedenen Klinikern nachgeprüft und reproduziert werden konnten (56) (57), treten nun mit so grosser Latenzzeit ein (s. oben), dass sie nicht mehr an die stoffliche Gegenwart von Procain oder dessen Derivate geknüpft sein können. Am ehesten könnte hier noch an eine Nachwirkung der durch den Aminoalkohol bedingten Gefässdilatation gedacht werden. Andererseits soll gerade der Diäthylaminoalkohol das Procain in der Geratrie nicht ersetzen können (57).

Es ist nun das Verdienst von TAUBMANN und TRESSER (76), an Hand von quantitativen Bestimmungen der Procainspaltung beim Menschen eine Hypothese vorgelegt zu haben, durch die erstmals solche Spätwirkungen des Novocains auf die vegetative Tonuslage verständlich werden konnten. In Versuchen an 100 gesunden Versuchspersonen hatten sie gefunden, dass die Spaltungsgeschwindigkeit des Plasmas für Novocain nach einer einmaligen Novocaininjektion (Lokalanästhesie) signifikant zugenommen hatte; die Fähigkeit zur Spaltung von Novocain ist also nach diesen Autoren durch Vorbehandlung mit dem Substrat steigerungsfähig. Man könne diesen Vorgang als Gewöhnung deuten "oder nach Riesser als Übung bezeichnen". Da nun die Procainesterase nach KALOWS (47) Untersuchungen aller Wahrscheinlichkeit nach identisch sei mit der Pseudocholinesterase des Serums, so könne vermutet werden, dass "der nach Novocain verstärkte und beschleunigte Abbau auch am Acetylcholin wirksam" werde. Obwohl sich aus einer "Übung" der Cholinesterase eine ergotrope Wirkung von Procain ergeben müsste, setzen die Verfasser eine solche nicht voraus, vielmehr sei durch ihren Befund eine Möglichkeit zur Deutung jener "vegetativen Dämpfung" gegeben, in der gewisse Autoren (29) (54) das Wesen der therapeutischen Procainwirkung erblickten. Sie komme vielleicht dadurch zustande, dass Acetylcholin Überträgerstoff für sympathische wie auch für parasympathische Synapsen ist, es könnte mithin "die beschleunigte Zerstörung (von Acetylcholin) die beiderseitige vegetative Dämpfung durch Novocain wohl erklären". Diese Möglichkeit der Erklärung könne sich, wie die Autoren ausdrücklich bemerken, "auch auf die erstaunliche therapeutische Dauerwirkung" beziehen, die "die eigentliche Novocainwirkung zeitlich so sehr übertreffe und oft genug eine Dauerheilung ist".

Da der heuristische Wert dieser Hypothese sehr beachtlich erscheint und eine Prüfung derselben bisher offenbar nicht erfolgt ist, so habe ich mich auf Anregung von Herrn Prof. v. WERZ dieser Aufgabe unterzogen. Ich hatte also zunächst im Tierversuch (und in zweiter Linie eventuell auch am Menschen) festzustellen, ob tatsächlich das Spaltungsvermögen des Plasmas auch für Acetylcholin durch eine vorausgehende Procaininjektion steigerungsfähig ist, wie es die Hypothese voraussetzt.

An geeigneten Methoden zur Bestimmung der Serumcholinesterase kamen in Frage: Die Messung der bei der Spaltung des Acetylcholins freiwerdenden Menge Essigsäure durch Titration oder Bestimmung des pH-Wertes und die am häufigsten angewendete Methode nach WARBURG, bei der die Zunahme der Azidität manometrisch gemessen wird. Wir begannen unsere Versuche zunächst mit der Titrationmethode. Ausser der subjektiven Beobachtung fielen die Fehlerquellen dieser Methode - die sie übrigens mit den meisten anderen Methoden teilt - gegenüber dem Vorteil der Einfachheit bzw. leichten Übersehbarkeit nicht ins Gewicht.

Die Tierversuche wurden am Kaninchen durchgeführt. Das Kaninchen schien uns darum am geeignetsten, weil nach HAZARD und BONAMY (37) die Nager ein hohes Spaltungsvermögen besitzen sollen und man ausserdem relativ grosse Mengen Blut entnehmen kann, was für uns bei Anwendung der Titrationmethode Voraussetzung war.

A. PLASMAESTERASE-BESTIMMUNG VOR UND NACH NOVOCAINZUFUHR BEIM KANINCHEN

1. TITRATIONSMETHODE

Mit dieser Methode wird die bei der Hydrolyse von Acetylcholin frei werdende Menge Essigsäure bei Anwesenheit eines geeigneten Indikators bestimmt.

Unser Vorgehen stellte eine etwas abgeänderte Form der von STEDMANN (75) beschriebenen Methode dar:

Beschreibung der Methode

100 ccm Aqua dest. wurden in einem Erlenmeyerkolben auf eine Temperatur von 30°C gebracht. Das Wasser war unmittelbar vor Versuchsbeginn durch halbstündiges Kochen CO₂-frei gemacht worden. Während des ganzen Versuches haben wir die Temperatur in einem Wasserbad mit Hilfe eines Thermoregulators konstant gehalten. Kurz vor Versuchsbeginn wurden 200 mg Acetylcholin-Chlorid (entsprechend 2 Ampullen Acetylcholin "Roche" à 100 mg) zugegeben. Mit der Zugabe von 1 ml Plasma begann der eigentliche Versuch. Der Indikator war Kresolrot (8 Tropfen) mit einem Umschlagspunkt von gelb in rot bei pH 8,3. Titriert wurde mit n/50 NaOH, bis der Umschlag erfolgte. Dieser Umschlagspunkt wurde während des ganzen Versuches durch weitere Zugaben von Natronlauge ständig beibehalten. Der Versuch verlief also, wie zu fordern, bei konstantem, für die Esterase annähernd optimalem pH (R. ABDERHALDEN (1); K.B. AUGUSTINSSON (12), bei dem zugleich die Pufferung durch die Plasma-Eiweisskörper am wenigsten störend wirkt (E. STEDMANN (75))). Die Ablesungen für die verbrauchte NaOH erfolgten in Abständen von 5 Minuten für eine Versuchsdauer von 30 Minuten. Um den nicht unerheblichen Einfluss der Luftkohlsäure (vgl. Abb. 1, Kurve A) weitgehend auszu-

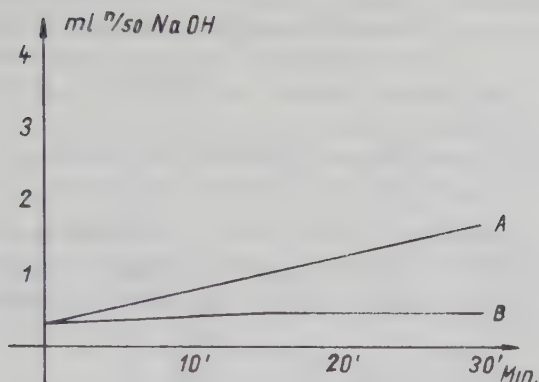


Abb. 1 Einfluss der Luftkohlensäure auf den Verbrauch an $n/50$ NaOH bei der Titration. Titriert wurde dest. Wasser.
 Kurve A: Verbrauch an $n/50$ NaOH bei freiem Zutritt von Luft.
 Kurve B: Verbrauch von $n/50$ NaOH bei Verhinderung von Luftzutritt.

schalten, wurde der Erlenmeyerkolben mit einem Gummistopfen verschlossen und der Auslauf der Bürette durch eine Bohrung des Stopfens in den Kolben geleitet. Der anfänglich trotzdem noch bemerkbare, wenn auch minimale Anstieg der Kurve B in Abb. 1 ist auf die CO_2 zurückzuführen, die sich bereits in dem Kolben befindet. Da es uns indessen nur auf Vergleichswerte ankam, spielte der geringe Betrag an Rest- CO_2 , der in allen Versuchen gleich bleibt, keine Rolle.

Zur Gewinnung des Plasmas wurden einem Kaninchen mit einer Rekordspritze 3 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen und 15 Minuten lang zentrifugiert. Da Serum immer geringe Mengen hämolysierter Blutkörperchen enthält, was die Erkennung des Umschlagpunktes erschwerte und durch die freiwerdende Erythrocyten-Esterase Ungenauigkeiten bei der Bestimmung der Plasmaesterase eintreten, wurde die Rekordspritze vorher mit einer Heparinlösung (Vetren (R)) durchgespült. Heparin hat nach AUGUSTINSSON (10) keinen Einfluss auf die Aktivität der Cholinesterase.

Von dem so gewonnenen Plasma wurde für Vergleichsuntersuchungen mit der Warburg-Methode (vgl. folg.) jeweils 0,1 ml Plasma auf Filtrierpapier aufgebracht, bei Zimmertemperatur getrocknet und im Eisschrank bei 4°C aufbewahrt.

Ergebnisse

Es wurde zunächst die Esteraseaktivität im Plasma unbehandelter Tiere ermittelt. Anschliessend wurde Novocain auf verschiedenem Wege und in verschiedener Menge verabreicht und der gefundene Wert mit dem Ausgangswert verglichen.

Ein Teil des Acetylcholin-HCl zerfällt unter den Versuchsbedingungen auf Grund spontaner Hydrolyse. Dieser nicht unerhebliche Spontanzerfall (vgl. umstehend) muss jeweils von der Gesamthydrolyse in Abzug gebracht werden. Es müssen also nach dem Gesagten folgende Bestimmungen ausgeführt werden:

1. Ermittlung der Spontanhydrolyse,
2. Ermittlung der Esteraseaktivität vor Applikation von Novocain,
3. Ermittlung der Esteraseaktivität nach Novocain-Applikation.

Ad 1. Die spontan entstehende Säuremenge wurde in der oben beschriebenen Form bestimmt, nur dass kein Plasma zu der Lösung gegeben wurde. Der Beginn der Reaktion war also durch die Zugabe von 200 mg Acetylcholin-HCl angezeigt.

TABELLE 2 Spontanhydrolysen in ml n/50 NaOH

Min.	0	5	10	15	20	25	30
Versuch I	0,34	0,48	0,61	0,73	0,89	0,99	1,10
Versuch II	0,36	0,50	0,66	0,73	0,85	0,96	1,08
Versuch III	0,35	0,49	0,59	0,71	0,83	0,94	1,07
Mittelwerte	0,35	0,49	0,62	0,72	0,85	0,96	1,08

In Tabelle 2 sind die Werte der Spontanhydrolyse aus 3 Versuchen aufgetragen. Zu Beginn des Versuches wurden durchschnittlich 0,35 ml n/50 NaOH zur Einstellung des Umschlagspunktes (pH 8,3) bzw. Neutralisierung der Luft-CO₂ verbraucht. Wie ersichtlich, beträgt die Spontanhydrolyse 0,75 ml NaOH in 30 Minuten. Die graphische Darstellung der Mittelwerte ist aus Abb. 2 (Kurve Sp) zu ersehen.

Ad. 2. Vor Beginn der Novocainzufuhr wurde nun zunächst für jedes der 10 in Versuch genommenen Tiere die Aktivität der Plasmaesterase bestimmt. Tabelle 3 gibt eine Übersicht.

TABELLE 3 Ausgangswerte der Plasmaaktivität aller Versuchstiere vor Novocainbehandlung in ml n/50 NaOH

Tier	Minuten						
	0	5	10	15	20	25	30
A	0,64	1,12	1,42	1,77	2,22	2,52	2,82
B	0,74	1,06	1,40	1,82	2,18	2,45	2,74
C	0,52	0,88	1,16	1,42	1,64	2,02	2,38
D	0,66	1,20	1,51	1,82	2,10	2,42	2,75
E	0,58	0,92	1,22	1,64	2,03	2,30	2,60
F	0,60	0,98	1,32	1,60	1,93	2,19	2,46
G	0,72	1,10	1,44	1,68	1,94	2,20	2,46
H	0,70	1,12	1,52	1,96	2,37	2,68	3,02
I	0,60	0,96	1,28	1,55	1,87	2,12	2,37
Mittelwerte	0,64	1,03	1,36	1,69	2,03	2,32	2,62
Standardabweichungen d. Mittelwerte	0,02	0,05	0,05	0,06	0,07	0,07	0,08

Zur Einstellung des Arbeits-pH von 8,3 (Umschlagspunkt von Kresolrot) in der plasmahaltigen Lösung wurden bei Versuchsbeginn jeweils $0,64 \pm 0,02$ ml n/50 NaOH verbraucht. Von da ab zeigen die Werte eine gleichmässige Zunahme, die bei allen 9 Tieren nur geringe individuelle Unterschiede in der Spaltungsgeschwindigkeit erkennen lässt. Eine graphische Darstellung dieser Ergebnisse bringt

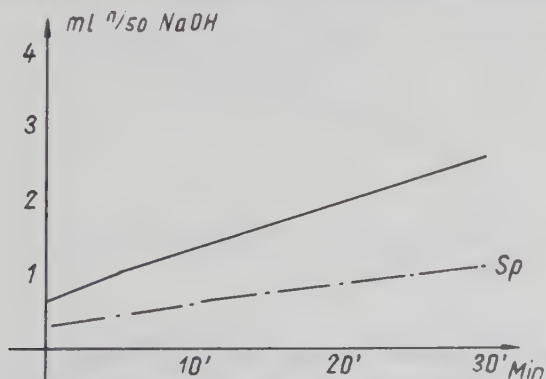


Abb. 2 Spaltung von Acetylcholin-HCl durch Plasma von 9 unbehandelten Kaninchen (ausgezogene Kurve).

Abszisse: ml verbrauchter n/50 NaOH

Ordinate: Minuten

-.-.- = Spontanhydrolyse des Acetylcholin-HCl. Die Fläche zwischen den Kurven Sp und Pl bezeichnet die eigentliche Esteraseaktivität.

Ad. 3. Nach der Bestimmung der Ausgangswerte des Esterasespiegels wurde nun den Kaninchen Novocain in 2 %iger Lösung auf verschiedenen Wegen und in verschiedenen Dosen zugeführt. Diese Dosierung wurde dabei so gewählt, dass bei den höchsten Dosen (100 mg/kg subkutan und 25 mg/kg intravenös) ein Teil der Tiere Krämpfe bekamen. Bei intravenösen Injektionen betrug die Injektionsgeschwindigkeit 3 ccm/Min. . Parallel zu den Versuchen mit Novocain wurden Kontrollversuche durchgeführt, bei denen die Tiere gleiche Mengen physiologischer Kochsalzlösung erhielten.

Zunächst wurde die Wirkung einer mittleren Dosis (50 mg/kg) nach einmaliger subkutaner Injektion geprüft. Ergebnis: Wie aus Tabelle 4 und Abbildung 3 ersichtlich, sind die Kurven ununterscheidbar, die Esteraseaktivität zeigte vor und nach Novocainzufuhr keinen Unterschied.

TABELLE 4 Einmalige subkutane Injektion (50 mg/kg)

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Inj.	Min.	0	5	10	15	20	25	30
A	50 mg	0		0,64	1,12	1,42	1,77	2,22	2,52	2,82
		1		0,66	1,15	1,42	1,84	2,15	2,51	2,90

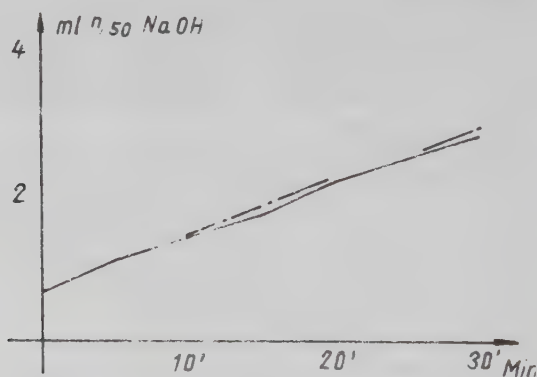


Abb. 3 Einmalige subkutane Injektion (50 mg/kg) (entspr. Tab. 4)

— = Plasma des unbehandelten Kaninchens
 - - - = Plasma nach Novocain-Injektion.

Es wurde nun der Einfluss mehrmaliger Injektionen geprüft, d.h. die Aktivität der Plasmaesterase jeweils nach dreimaliger und sechsmaliger subkutaner Novocaininjektion bestimmt. Die Kaninchen bekamen das Novocain an drei aufeinanderfolgenden Tagen verabreicht. Am 4. Tag wurden etwa 3 ccm Blut abgenommen und die Esteraseaktivität bestimmt. Dann folgten weitere drei Injektionen und eine nochmalige Prüfung der Aktivität am 8. Tag. Ausser mit der mittleren Dosis von 50 mg/kg wurden die Versuche jetzt ausserdem mit der halben (25 mg/kg) und der doppelten (100 mg/kg) Menge durchgeführt (vgl. Tab. 5 und Abb. 4).

TABELLE 5 Drei- und sechsmalige subkutane Injektionen
in Dosen von 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg.

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Inj.	Min.: 0	5	10	15	20	25	30
B	25 mg	0	0,74	1,06	1,40	1,82	2,18	2,45	2,74
		3	0,62	1,13	1,46	1,83	2,23	2,52	2,81
		6	0,62	1,06	1,40	1,79	2,09	2,38	2,73
C	50 mg	0	0,52	0,88	1,16	1,42	1,64	2,02	2,38
		3	0,60	1,03	1,33	1,68	2,03	2,46	2,70
		6	0,68	1,12	1,50	1,79	2,14	2,40	2,75
D	100 mg	0	0,66	1,20	1,51	1,82	2,10	2,42	2,75
		3	0,69	1,12	1,52	1,75	2,06	2,35	2,63
		6	0,64	1,10	1,44	1,70	2,10	2,42	2,70
Mittel- werte		0	0,64	1,04	1,35	1,68	1,97	2,29	2,62
		3	0,63	1,09	1,43	1,75	2,10	2,44	2,71
		6	0,64	1,09	1,44	1,76	2,11	2,40	2,72

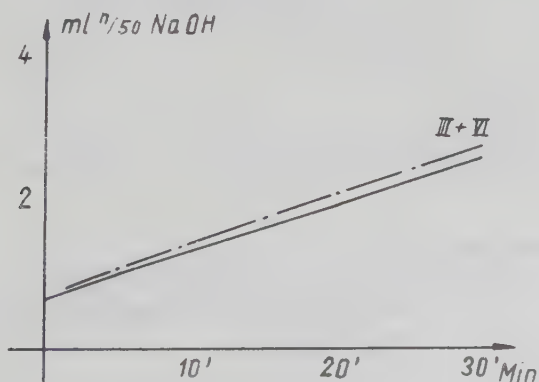


Abb. 4 (entspr. Tab. 5)

———— = unbehandeltes Kaninchenplasma.

----- = nach 3 und 6 maliger subkutaner Novocain-Applikation.

Ergebnis: Weder nach dreimaliger noch nach sechsmaliger Novocainzufuhr konnte eine Aktivitätsänderung gegenüber den Ausgangswerten beobachtet werden. Wie aus Tab. 5 und Abb. 4 ersichtlich ist, liegen die minimalen Veränderungen der Aktivität völlig im Bereiche der Fehlerbreite. Es zeigt sich also, dass auch bei wiederholter Zufuhr im ganzen Bereich der geprüften Dosen kein Einfluss subkutaner Novocaininjektionen auf die Plasmacholinesterase festzustellen ist. Selbst nach sechsmaliger Injektion hat sich die Aktivität der Plasmacholinesterase gegenüber dem Ausgangswert nicht verändert.

Da es denkbar erschien, dass die adaptative Fermentbildung auch von der Zufuhrgeschwindigkeit des Substrats abhängen könnte, wurden zur Ergänzung noch Versuche angestellt, bei denen das Novocain a) stossweise (intravenös) und b) zeitlich protrahiert (oral; subkutan mit Adrenalinzusatz) zugeführt wurde.

TABELLE 6 Drei- und sechsmalige intravenöse Injektion (25 mg/kg)

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Inj.	Min. 0	5	10	15	20	25	30
E	25 mg	0	0,58	0,92	1,22	1,64	2,03	2,30	2,60
		3	0,53	0,93	1,19	1,53	1,91	2,20	2,56
		6	0,63	1,12	1,46	1,80	2,13	2,51	2,85

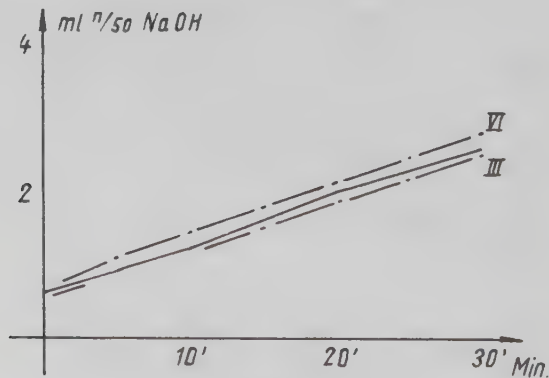


Abb. 5 (entsprechend Tab. 6)

- = unbehandeltes Kaninchenplasma.
 - - - - - = nach 3- (III) und 6maliger (VI) intravenöser
 Novocainzufuhr.

TABELLE 7 Sechsmalige orale Verabreichung (100 mg/kg)

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Ver- abreichgn.	Min. 0	5	10	15	20	25	30
		0	0,60	0,98	1,32	1,60	1,93	2,19	2,46
F	100 mg	6	0,74	1,08	1,54	1,86	2,24	2,62	2,92

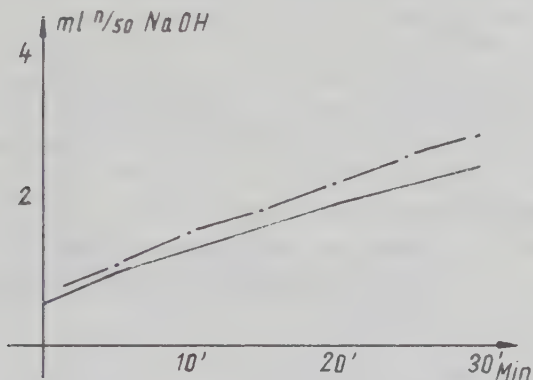


Abb. 6 (entsprechend Tab. 7)

— = Plasma des unbehandelten Kaninchens
 - - - = nach 6-maliger oraler Novocain-Verabreichung

TABELLE 8 Sechsmalige subkutane Injektion von Novocain-Suprarenin (50 mg/kg Nov.; Suprarenin 1 : 100 000)

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Inj.	Min. 0	5	10	15	20	25	30
		0	0,72	1,10	1,44	1,68	1,94	2,20	2,46
G	50 mg	6	0,70	1,11	1,45	1,69	1,98	2,32	2,60

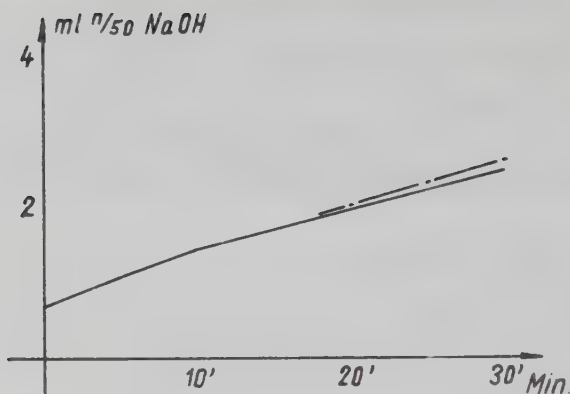


Abb. 7 (entsprechend Tab. 8)

— = Plasma des unbehandelten Kaninchens
 - - - - - = nach sechsmaliger subkutaner Injektion von Novocain-Suprarenin

Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, zeigte sich also, dass sich eine Steigerung der Aktivität der Plasmacholinesterase durch Novocain beim Kaninchen auch dann nicht erreichen lässt, wenn man das Novocain auf andere als subkutane Weise zuführt, d. h. also, das Ergebnis bleibt negativ, unabhängig von der Resorptionsgeschwindigkeit des Novocains.

Trotz der Eindeutigkeit dieses Ergebnisses haben wir uns indessen, da die Titrationmethode eigentlich nur zu einer ersten Orientierung dienen sollte, nicht mit ihr begnügt. Wir haben vielmehr zur Kontrolle die Methode nach Warburg herangezogen, bei der die mit jeder subjektiv kolorimetrischen Methode verbundenen Fehler (Beurteilung des Umschlagspunktes, s. o.) in Fortfall kommen.

2. MANOMETRISCHE METHODE

Diese zur Bestimmung der Esteraseaktivität meist verwandte Methode beruht bekanntlich darauf, dass die bei der Spaltung von Acetylcholin entstehende Essigsäure mit dem in einem Puffergemisch enthaltenen Bikarbonat in Reaktion tritt und die dabei sich bildende CO_2 nach den bekannten Grundsätzen manometrischer Verfahren quantitativ gemessen werden kann.

Beschreibung der Methode

Das Verfahren, wie es AUGUSTINSSON (11) angegeben hat, gestattete es uns, das von den Titrationsversuchen abgezweigte Plasma zu fast beliebigem Zeitpunkt nachträglich zu verarbeiten. Wir gaben zu diesem Zwecke je 0,1 ml Plasma auf Filtrierpapier, liessen es bei Zimmertemperatur trocknen und bewahrten

es bis zur Verarbeitung im Kühlschrank bei 4°C auf. Die Proben sollen unter diesen Umständen drei Monate lang (bei Zimmertemperatur etwa 1 Woche) haltbar sein. Zur Verarbeitung wurde der gut sichtbare Fleck herausgeschnitten, in feine Streifen zerschnitten und mit 2,6 ml Ringer-Bikarbonat Pufferlösung eine halbe Stunde lang extrahiert. Die Bestimmungen wurden in Anwesenheit des Papiers durchgeführt, das nach AUGUSTINSSON (11) keinen Einfluss auf die Aktivität hat.

Für die Bestimmungen haben wir die üblichen Warburg-Manometer mit den 14-15 ml fassenden Flaschen benutzt. Die Gefäße wurden nach jedem Gebrauch gut gesäubert: Fett mit Chloroform entfernt, die Gefäße über Nacht in Bichromat-schwefelsäure weggestellt, vor jedem Versuch mehrmals mit Wasser und anschließend mit Aqua dest. gespült und im Trockenschrank getrocknet. Dann wurden das Substrat und die Esterase in die Gefäße gebracht; Die Esterase in Form des fein zerschnittenen Filterpapiers mit 2,6 ml Bicarbonat-Pufferlösung in den Hauptteil des Warburg-Gefäßes; als Substrat 0,6 ml Acetylcholin-HCl in den Nebenschenkel (Konzentration 1066 mg %), so dass sich bei insgesamt 3,2 ml eine Endkonzentration von 200 mg % ergab.

Nachdem die Gefäße, mit Hahnenfett gut abgedichtet, an den Manometern angebracht waren, wurden sie zwecks Elution der Esterase vom Filterpapier eine halbe Stunde lang bei 120 Schwingungen pro Minute geschüttelt. Anschließend wurden sie 10 Minuten lang mit einem Gasgemisch aus 5 % CO₂ und 95 % N₂ durchströmt. (5 % CO₂ darum, weil die Lösung mit wenigstens 5 % CO₂ im Gleichgewicht stehen muss, um keinen Einfluss auf das durch die Reaktion gebildete Kohlendioxyd zu nehmen). Die Hähne wurden nun alle geschlossen und die Lösung zwecks Temperatúrausgleichs mit dem Wasserbad (37°C) nochmals 20 Minuten lang geschüttelt. Nunmehr konnten Enzym und Substrat gemischt werden, nachdem kurz vorher zum Zeitpunkt 0 der Manometerstand abgelesen wurde; weitere Ablesungen erfolgten in Abständen von 10 Minuten über eine Versuchsdauer von 40 Minuten. Dabei musste der Schüttelmotor jedesmal für kurze Zeit angehalten werden. Nie wurden mehr als 7 Manometer aufgesetzt, einschliesslich eines Thermobarmeters, das mit 3,2 ml Wasser gefüllt war.

Es war sehr vorteilhaft, dass auf diese Weise sämtliche Plasmaproben von einem Kaninchen in einer Versuchsserie verarbeitet werden konnten. Alle Proben wurden in Doppelbestimmungen geprüft.

Ergebnisse

Die tabellarische und graphische Darstellung der Versuchsergebnisse folgt dem gleichen Gang wie bei dem Bericht über die Ergebnisse der Titrationsmethode. Dementsprechend zeigt Tabelle 9 zunächst die Werte für die Spontanhydrolyse aus drei Versuchen. Ihre Mittelwerte sind in Abb. 8 als unterbrochene Kurve Sp aufgezeichnet. Die Kurve zeigt ab 10 Minuten einen recht linearen Verlauf. Der steilere Anstieg während der ersten 10 Minuten ist dadurch bedingt, dass bereits vor Versuchsbeginn, d. i. vor der Vereinigung von Esterase und Substratlösung, eine Spontanhydrolyse der letzteren im Nebenschenkel des Warburg-Gefäßes

stattgefunden hat, zur Zeit 0 also bereits ein Quantum Essigsäure der Pufferlösung zugesetzt wird.

TABELLE 9 Spontanhydrolysen in $\mu\text{l CO}_2$.

Minuten		10	20	30	40
Versuch	I	0,696	0,928	0,928	1,160
Versuch	II	0,460	0,690	1,035	1,150
Versuch	III	0,570	0,570	0,912	1,026
Mittelwerte		0,575	0,729	0,958	1,112

In Tabelle 10 sind wieder die Ausgangswerte der 9 Kaninchen zusammengestellt. In der geringeren Streuung um den Mittelwert kommt die kleinere Fehlerbreite der manometrischen Methode zum Ausdruck.

TABELLE 10 Ausgangswerte der Plasmaaktivität aller Versuchstiere vor Novocainbehandlung in $\mu\text{l CO}_2$

Tier	Min.	10	20	30	40
A		1,740	2,552	3,480	4,408
B		1,250	2,250	3,375	4,250
C		1,392	2,552	3,596	4,640
D		1,500	2,500	3,375	4,250
E		1,392	2,320	3,248	4,292
F		1,469	2,260	3,164	4,407
G		1,240	2,356	3,348	4,092
H		1,276	2,204	3,480	4,292
I		1,695	2,373	3,390	4,294
Mittelwerte		1,439	2,374	3,384	4,325
Standardabweichg.					
d. Mittelwerte		0,063	0,044	0,035	0,040

Den Anstieg der Mittelwerte veranschaulicht Abb. 8.

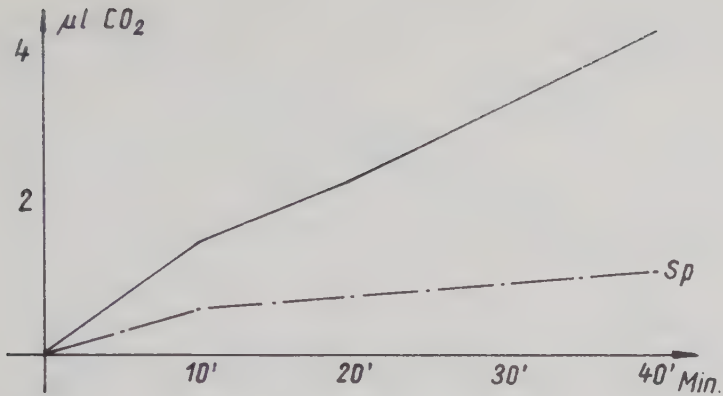


Abb. 8 Spaltung von Acetylcholin-HCl durch Plasma von 9 unbehandelten Kaninchen (ausgezogene Kurve).
 Abszisse: μl gebildeter CO_2 .
 Ordinate: Minuten.
 Sp = Spontanhydrolyse.

Tabelle 11 zeigt die Versuchsergebnisse vor und nach einmaliger subkutaner Injektion von Novocain. Die entsprechende graphische Aufzeichnung ist in Abb. 9 wiedergegeben. Wie ersichtlich, ist eine Aktivitätssteigerung der Plasmaesterase nicht festzustellen. Auch die Versuchsergebnisse nach drei- und sechsmaliger subkutaner Novocaininjektion ergaben keinen Anstieg der Plasmaaktivität (vgl. Tab. 12 und Abb. 10); das gleiche gilt für die Ergebnisse nach drei- und sechsmaliger intravenöser Applikation (vgl. Tab. 13 und Abb. 11) und nach sechsmaliger oraler Novocain-Verabreichung (vgl. Tab. 14 und Abb. 12). Der Versuch mit Novocain-Suprarenin (vgl. Tab. 15 und Abb. 13) ergab ebenfalls eine klare Übereinstimmung der Werte vor und nach der Novocainbehandlung.

TABELLE 11 Einmalige subkutane Injektion (50 mg/kg)

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Min. : Injekt.	10	20	30	40
A	50 mg	0	1,740	2,552	3,480	4,408
		1	1,840	2,875	3,565	4,600

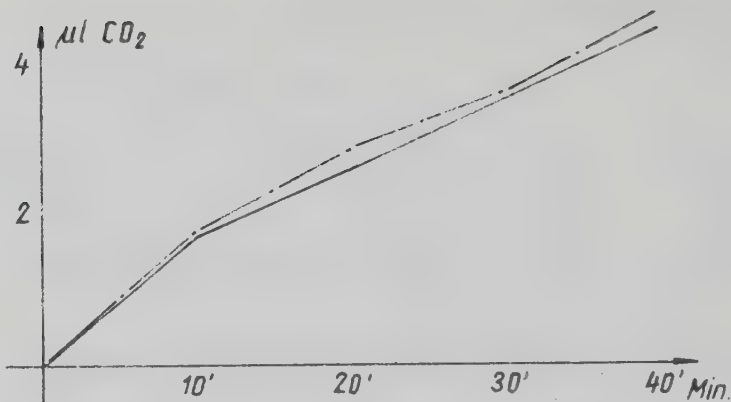


Abb. 9 (entspr. Tab. 11) ————— = unbehandeltes Kaninchenplasma
 - - - - - = nach einmaliger subkutaner Injektion.

TABELLE 12 Drei- und sechsmalige subkutane Injektion
 in Dosen von 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg.

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Inj.	Min.: 10	20	30	40
B	25 mg	0	1,250	2,250	3,375	4,250
		3	1,695	2,712	3,616	4,520
		6	2,480	3,224	3,844	4,588
C	50 mg	0	1,392	2,552	3,596	4,640
		3	1,610	2,760	3,795	4,600
		6	1,368	2,508	3,648	4,446
D	100 mg	0	1,500	2,500	3,375	4,250
		3	1,495	2,415	3,105	3,910
		6	1,364	2,356	3,100	3,844
Mittel- werte		0	1,380	2,434	3,448	4,380
		3	1,600	2,629	3,505	4,343
		6	1,737	2,696	3,530	4,292

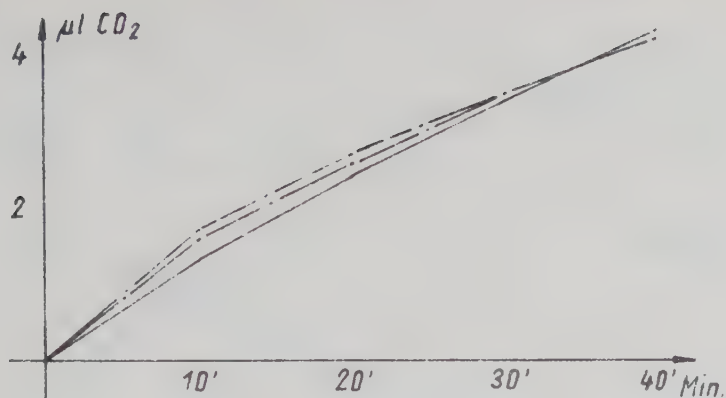


Abb. 10 (entspr. Tab. 12)

— = unbehandeltes Kaninchenplasma
 - - - = nach drei- und sechsmaliger subkutaner Injektion.

TABELLE 13 Drei- und sechsmalige intravenöse Injektion

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Inj.	Min.:	10	20	30	40
E	25 mg	0		1,392	2,320	3,248	4,292
		3		1,725	2,645	3,680	4,485
		6		1,488	1,984	3,224	3,968

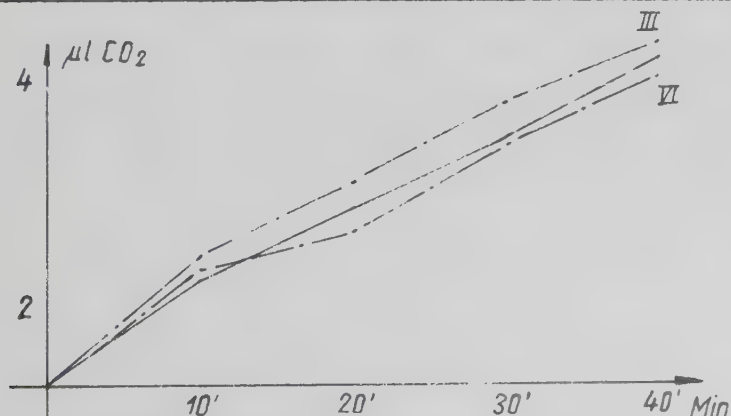


Abb. 11 (entspr. Tab. 13)

— = unbehandeltes Kaninchenplasma
 - - - = nach drei- (III) und sechsmaliger (VI) intravenöser Novocaininjektion.

TABELLE 14 Sechsmalige orale Verabreichung (100 mg/kg)

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Verabrgn.	Min.:	10	20	30	40
F	100 mg	6		1,469	2,260	3,164	4,407
				1,254	2,508	3,306	4,104

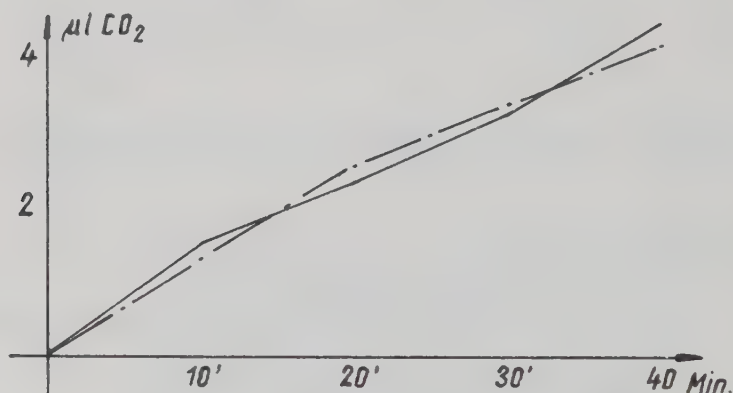


Abb. 12 (entspr. Tab. 14)

— = unbehandeltes Kaninchenplasma
 - - - = nach sechsmaliger oraler Novocainverabreichung

TABELLE 15 Sechsmalige subkutane Injektion von Novocain-Suprarenin (50 mg/kg Nov. Suprarenin 1:100 000)

Tier	Dosis pro kg	Zahl d. Injekt.	Min.:	10	20	30	40
G	50 mg	6		1,240	2,356	3,348	4,092
				1,500	2,375	3,375	4,125

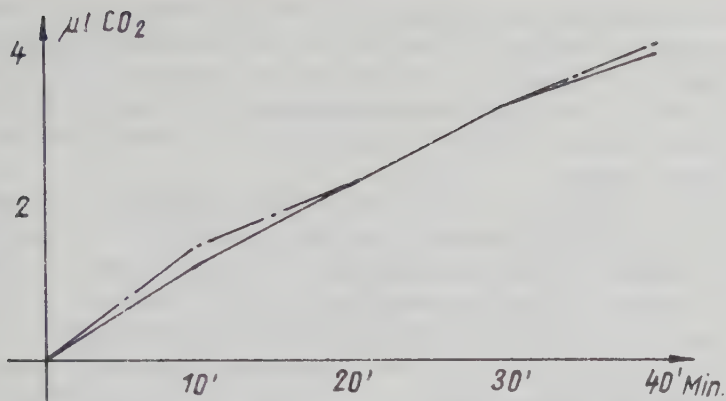


Abb. 13 (entspr. Tab. 15)

- = unbehandeltes Kaninchenplasma
 - - - = nach sechsmaliger subkutaner Injektion von Novocain-Suprarenin.

Die Titrationsergebnisse konnten somit also manometrisch bestätigt werden. Weder nach der Titrationmethode noch nach der manometrischen Methode ergaben sich Unterschiede zwischen den Ausgangswerten und den Werten nach Novocainapplikation. Eine Wirkungssteigerung der Plasmacholinesterase ist nach Novocainzufuhr also zumindest für das Kaninchen nicht gegeben.

Angesichts dieser negativen Ergebnisse wäre es im Hinblick auf die Beobachtung TAUBMANNS von grossem Interesse gewesen festzustellen, ob unsere mit Procain behandelten Tiere ebenso wie die Patienten TAUBMANNS eine gesteigerte Spaltungsfähigkeit wenigstens für Procain aufweisen. Leider ist es ein Nachteil der meisten zur Aktivitätsbestimmung der Procainesterase gebräuchlichen Methoden, dass sie nicht unerhebliche Plasmamengen voraussetzen, so dass vergleichende Bestimmungen am selben Tier nicht möglich sind, ohne durch Blutverlust zugleich den Enzymbestand selbst zu beeinflussen. Von diesem Mangel möchte möglicherweise die spektrophotometrische Methode frei sein, die für Aktivitätsbestimmungen an menschlicher Procainesterase in neuerer Zeit erfolgreich angewandt wurde. Wir haben daher einige orientierende Versuche unternommen um zu prüfen, ob wir eventuell mit Hilfe dieser Methode in der Lage wären, die im Eisschrank aufbewahrten Proben von Trockenplasma unserer Kaninchen (wir hatten für Parallelbestimmungen von vornherein stets mehrfache Proben à 0,1 ml eingetrocknet) nachträglich auch auf ihr Procainspaltungsvermögen zu untersuchen.

3. SPEKTROPHOTOMETRISCHE METHODE.

Die Spektrophotometrie gründet sich auf die ultravioletten Absorptionsspektren und gibt uns die Möglichkeit, durch Beobachtung der optischen Dichte bei einer geeigneten Wellenlänge, Rückschlüsse auf die Konzentration der zu bestimmenden Substanz zu ziehen. Novocainbestimmungen, allerdings mit Menschenserum, wurden bereits von KALOW (47) durchgeführt, auf dessen Arbeit wir uns im wesentlichen bezogen.

Verwendet wurde ein Beckmann Quarz-Spektrophotometer mit Ultraviolett-Zubehör und Quarz-Absorptionsküvetten mit einem Lichtweg von 10 mm. Die Temperatur entsprach Zimmertemperatur (22°C). Die Herstellung der Substratlösung und die Verdünnung der Esterase erfolgten mit M/15 Phosphatpuffer, zubereitet nach Soerensen und Clark (pH 7,4). Die Novocainkonzentration betrug 0,001%, das sind 1 mg % oder 10 µg auf 1 ml. Die Konzentrationsänderungen wurden bestimmt bei einer Wellenlänge von 300 mµ - einer Wellenlänge, die möglichst nahe dem Extinktionsmaximum des Novocains liegt und bei der andererseits der Einfluss der Spaltprodukte des Novocains, hier vor allem der p-Aminobenzoesäure (das Diäthylaminoäthanol zeigt nur eine ganz minimale Extinktion), möglichst gering ist.

Abb. 14 zeigt die Extinktionskurven für Lösungen von 0,001 %igem und 0,0005 %igem Novocain sowie die Kurve für Paraaminobenzoesäure, wie sie in äquivalenten Mengen entsteht, wenn 0,001 %iges Novocain zur Hälfte gespalten wird.

Zunächst sollte geprüft werden, ob eine Spaltung des Novocains durch das für die Titration entnommene und auf Filtrierpapier getrocknete Plasma (jeweils 0,1 ml) nachweisbar ist. Das Filterpapier wurde, wie bereits beschrieben, in feine Streifen zerschnitten und eine halbe Stunde lang in 4 ml Phosphatpuffer (vgl. Warburg Methode) geschüttelt. Das Papier wurde dann abfiltriert und von dem Esterase-Puffergemisch 1,3 ml zusammen mit 1,3 ml 0,002 %iger Novocainlösung in eine Quarzküvette gegeben. Indessen war unter diesen Bedingungen während 30 Minuten keine Veränderung der Extinktion festzustellen.

Auch die Suche nach Fehlerquellen (Temperatur, Plasma- und Substratkonzentration) änderte nichts daran, dass die Methode für uns unbrauchbar war. Die Temperatur als Ursachenquelle für die fehlende Spaltung kam nicht in Frage, da nach TERP (79) eine Temperaturerhöhung von 20 auf 30° nur eine geringe Steigerung der Spaltungsgeschwindigkeit bewirken soll. Die Vermutung, dass die Plasmakonzentration von 1 : 80 zu gering ist, um zu merklicher Spaltung zu führen, bestätigte sich, als wir Versuche mit reinem Plasma in Verdünnungen von 1:24 und 1:12 durchführten und sich auch dann noch keine Änderungen ergaben. Die Substratkonzentration von 1 mg % (die AcetylcholinKonzentration hatte bei den Warburg - wie bei den Titrationsversuchen 200 mg % betragen!) konnte nicht wesentlich erhöht werden, weil sonst die Extinktion in nicht mehr messbare Bereiche übergegangen wäre. KALOW (47) hatte eine Spaltung des Novocains bei gleicher

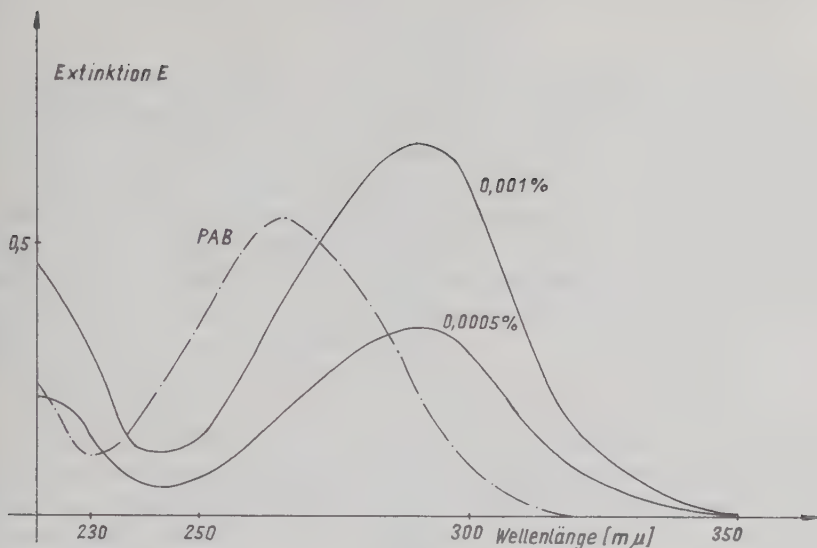


Abb. 14

Substratkonzentration feststellen können, allerdings mit Menschenplasma. Nach TERP (79) soll die Aktivität der Procainesterase beim Kaninchen nur etwa 5 % der menschlichen Aktivität betragen. Es ergab sich also, dass das Kaninchenplasma viel zu inaktiv ist, um in optisch noch zulässigen, d.h. nicht störenden Konzentrationen eine spektrophotometrische Bestimmung zu gestatten.

Zum Nachweis der Acetylcholinspaltung durch Kaninchenplasma eignete sich übrigens, wie wir fanden, die spektrophotometrische Methode erst recht nicht, wenn auch aus anderen Gründen.

Zwar konnte eine geeignete Wellenlänge für Acetylcholin bei 205 bis 215 mμ gefunden werden (vgl. Abb. 15), doch stellte sich andererseits heraus, dass die Eiweißkörper des Plasmas in diesem Wellenbereich ebenfalls so ungewöhnlich stark absorbieren (vgl. Abb. 16), dass die Methode zur Aktivitätsbestimmung der Plasmacholinesterase in genuinem Blut, mit dem wir arbeiten mussten, leider erst recht nicht in Frage kam.

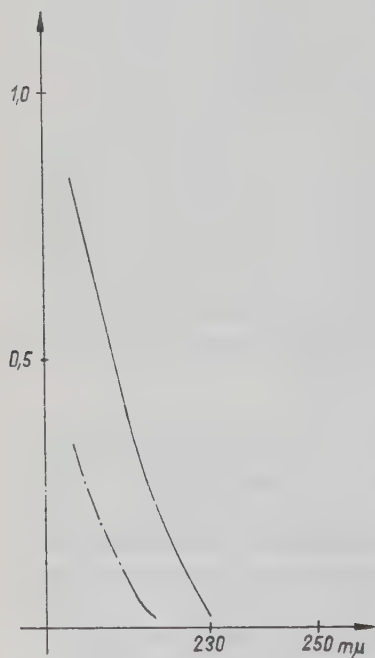


Abb. 15

Absorptionskurve für Acetylcholin-HCl (ausgezogene Kurve) und die äquivalente Menge Essigsäure (unterbrochene Kurve).

Cholin zeigt nur eine ganz minimale Absorption im Wellenbereich von 205-215 $m\mu$.

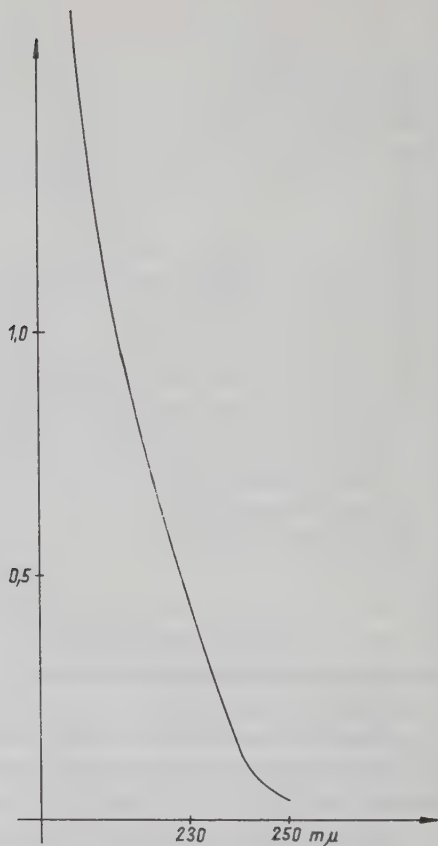


Abb. 16

Absorptionskurve für 0,1 %iges Kaninchenplasma entsprechend einer Verdünnung von 1:1 000.

B. PLASMAESTERASE-BESTIMMUNG VOR UND NACH NOVOCAINZUFUHR BEIM MENSCHEN

TAUBMANN (76) hatte sein Procainversuche am Menschen nach Lokal-
anästhesie durchgeführt. Es hätte daher durchaus der Fall sein können, dass beim
Kaninchen völlig andere Verhältnisse bezüglich der Serumesterase vorliegen.
Wir haben darum das Verhalten der Plasmacholinesterase vor und nach Novocain-
injektion wenigstens in einer kleinen Versuchsreihe auch am Menschen geprüft.
Dabei handelte es sich um 10 gesunde Patienten aus der Ambulanz der Chirurgi-
schen Klinik, an denen aus verschiedenen Indikationen (meist Verletzungen) eine
örtliche Betäubung mit Novocain bzw. Novocain-Suprarenin - wie bei TAUB-
MANN - vorgenommen werden musste.

Zur Methode

Auch hier bedienten wir uns wieder der oben beschriebenen manometrischen
Bestimmung in der von AUGUSTINSSON (11) entwickelten Modifikation. Die
Blutproben wurden aus dem Ohrläppchen vorschriftsmässig entnommen. Das Ohr-
läppchen wurde vor der Entnahme mit Alkohol gut gesäubert, der erste Tropfen
mit einem Tupfer abgewischt und sodann 0,05 ml mit einer Blutzuckerpipette
aufgezogen und auf Filterpapier aufgebracht. Vorher wurden die Pipetten jeweils
mit stark verdünntem Heparin durchgespült. Die Verarbeitung dieser Proben er-
folgte innerhalb von ca. 2 Wochen.

Je zwei Blutentnahmen waren erforderlich: Eine vor der operativen Wund-
versorgung bzw. Lokalanästhesie, die zweite 2-3 Tage später, wenn die Patien-
ten zur Nachbehandlung in die Klinik kamen. Die Menge des zur subkutanen In-
filtration verwandten Novocains betrug durchschnittlich 10-20 ccm der 1 %igen
Lösung, in einzelnen Fällen auch mehr.

Die weitere Verarbeitung der Blutproben erfolgte genauso wie für die Be-
stimmung der Kaninchenplasma-Esterase angegeben, nur mit dem Unterschied,
dass an Stelle von Acetylcholin-HCl Butyrylcholin-HCl als Substrat trat und zwar
darum, weil dieses im Gegensatz zu Acetylcholin nur von der Plasmacholin-
esterase gespalten wird (1) (11). Die Konzentration des Butyrylcholin-HCl betrug
200 mg %.

Ergebnisse

Tabelle 16 zeigt zunächst wieder 3 Spontanhydrolysen - dieses Mal für
Butyrylcholin-HCl (vgl. auch Abb. 17 Kurve Sp). Die Menge des spontan in
Buttersäure und Cholin zerfallenden Esters ist verhältnismässig gering.

TABELLE 16 Spontanhydrolysen in $\mu\text{l CO}_2$

Min.	10	20	30	40
Versuch I	0,226	0,452	0,565	0,678
Versuch II	0,114	0,456	0,456	0,684
Versuch III	0,342	0,456	0,684	0,798
Mittelwerte	0,227	0,454	0,568	0,720

In Tabelle 17 sind nun die Werte für die Spaltung von Butyrylcholin-HCl durch Serumesterase von 10 verschiedenen Personen vor und nach Lokalanästhesie aufgezzeichnet. Was zunächst auffällt, sind die im Verhältnis zum Kaninchen sehr starken individuellen Unterschiede der enzymatischen Aktivität des menschlichen Plasmas. Der niedrigste Werte nach 40 Minuten liegt bei 9,8 $\mu\text{l CO}_2$, der höchste bei 15,4 μl , die Differenz macht die recht beträchtliche Schwankungsbreite von 5,6 μl aus. Auf diese individuellen Unterschiede der Fermentaktivität hat bereits AUGUSTINSSON (12) aufmerksam gemacht. MARCHAND (60) gibt die Schwankungen für das Plasma mit Werten bis zu + 100 % und - 20 % des von ihm angegebenen Mittels an.

TABELLE 17 Hydrolytische Spaltung von Butyrylcholin-HCl durch Serumesterase vor und nach Novocain-Applikation beim Menschen in $\mu\text{l CO}_2$.

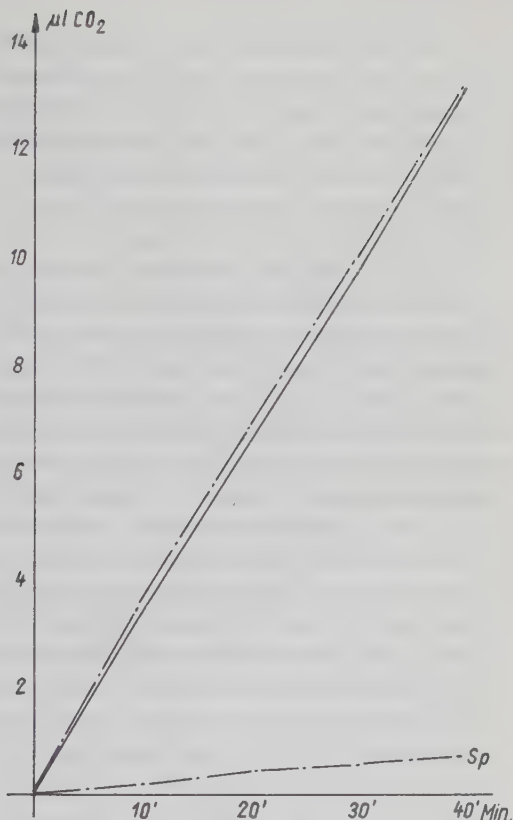
Patient	Vor Novocain-Applikation				Nach Novocain-Applikation				Verändrg. n. 40 Min. in %
	Min:10	20	30	40	10	20	30	40	
H. Gl.	4,060	6,728	9,744	13,804	4,140	7,015	10,235	13,915	+ 0,7%
E. Sch.	3,390	5,989	8,701	12,091	3,762	6,498	9,462	11,970	- 0,8%
L. Ge.	2,668	6,032	8,932	11,948	2,875	5,865	8,740	11,730	- 1,6%
W. Ha.	2,108	4,836	7,192	9,796	2,750	5,250	7,625	9,875	+ 0,8%
S. Ba.	3,616	7,910	11,413	15,481	4,218	8,322	11,856	15,732	+ 1,2%
E. Ph.	4,292	6,612	9,628	13,340	3,335	6,325	9,660	12,650	- 5,2%
F. Be.	3,596	6,448	10,044	13,144	3,875	6,250	9,875	12,750	- 3 %
H. Se.	3,729	6,780	10,509	13,673	3,762	6,726	10,374	13,338	- 2,2%
J. We.	3,132	7,656	11,020	14,500	3,795	8,510	12,650	16,560	+14,4%
L. Gr.	3,596	7,440	11,160	14,880	3,500	7,625	10,750	14,750	- 0,7%
Mittel- werte	3,419	6,643	9,834	13,266	3,601	6,839	10,123	13,372	+ 0,7%
Standard- abweichg. d. Mittel- werte	0,203	0,286	0,410	0,507	0,154	0,330	0,466	0,624	

Abb. 17

Mittelwerte entspr. Tab. 16

Sp = Spontanhydrolyse

— = Plasmaaktivität
vor Lokalanästhesie
- - - = Plasmaaktivität
nach örtl. Betäubung
mit Novocain.



Demgegenüber zeigt nun aber ein Vergleich der Werte vor und nach Lokalanästhesie mit einer Ausnahme (J. We.) praktisch keine Unterschiede. Setzen wir die Ausgangswerte jeweils = 100, so beträgt die Veränderung nach 40 Minuten im Mittel nur + 0,7 %, d. h. es hat keine Änderung der Plasmaaktivität stattgefunden.

Noch deutlicher wird der Befund durch die graphische Darstellung in Abb. 17: Die beiden Kurven für die Mittelwerte der Fermentaktivität vor und nach Novocainbehandlung verlaufen fast deckungsgleich. Nach einmaliger Novocaininjektion ist also auch beim Menschen eine Aktivierung der Plasmacholinesterase (offenbar im Gegensatz zum Verhalten der Procainesterase) nicht festzustellen.

Die Versuche haben gezeigt, dass die Aktivität der Plasmacholinesterase durch Procainzufuhr weder beim Kaninchen noch beim Menschen gesteigert werden kann. Nun haben TAUBMANN und TRESSER (76) wie schon erwähnt, beim Menschen eine Steigerung der Procainesteraseaktivität bereits nach einmaliger Procaininjektion (Lokalanästhesie) gefunden.⁴⁾ In ihrem Zusammenhang widersprechen beide Ergebnisse der Vermutung von KALOW (47) (48) (u. a. auch ADRIANI (4)), dass die Procainesterase mit der Pseudocholinesterase identisch ist.

KALOW stützt sich bei seiner Vermutung im wesentlichen auf z. T. eigene Untersuchungen über verschiedene Hemmstoffe. So wird nach Angaben des Autors sowohl die Pseudocholinesterase als auch die Procainesterase durch Physostigmin, Fluoride und Chinin gehemmt; Acetylcholin und Procain hemmen gegenseitig ihre Spaltung, was als Konkurrenzhemmung gedeutet wird (47). Die Annahme einer Identität beider Fermente liegt nach diesem Befund nahe. Trotzdem sind die hemmenden Einflüsse der genannten Substanzen keine spezifische Reaktion gegenüber der Cholinesterase, denn bekanntlich hemmt Physostigmin nicht nur die Acetylcholin- und Procainspaltung, sondern auch die Hydrolyse von Atropin, das mit Sicherheit nicht durch Cholinesterase gespalten wird. Man wird daher NACHMANNSSOHN zustimmen müssen, wenn er sagt, dass eine Differenzierung von Enzymen auf Grund spezifischer Hemmstoffe "keine einwandfreie Methode" sei, "da die absolute Spezifität der Hemmstoffe selbst äusserst fraglich ist."

Die Behauptung einer Identität von Procain- und Plasmacholinesterase ist in der Literatur nicht unwidersprochen (HAZARD (38), FIESSINGER (30), TERP (79)). HAZARD (38) sieht einen wesentlichen Unterschied zwischen Plasmacholin- und Procainesterase darin, dass letztere durch schwache Physostigmindosen nicht gehemmt wird. Insofern verliert auch der Befund von KALOW an Bedeutung, da die Hemmwirkung von Physostigmin offensichtlich mit verhältnismässig hohen Konzentrationen erprobt wurde (vgl. oben).

Beide Fermente zeigen ausserdem bei Leber- und Schilddrüsenerkrankungen gleichsinnige Veränderungen ihrer Aktivität, was wiederum für eine Identität sprechen könnte. So kommt es bei Leberparenchymschäden zu einer Verminderung der Aktivität beider Esterasen (9) (30) (39) und zu einer Steigerung ihres Spaltungsvermögens bei Hyperthyreose (38) (9). Allerdings darf man auch hier nicht ausser acht lassen, dass diese pathologischen Einflüsse ebenfalls

⁴⁾ Eine solche Aktivitätssteigerung von Enzymen ist - z. B. zur Erklärung der Toleranzsteigerung gegenüber einer Reihe von toxischen Substanzen - bereits verschiedentlich erörtert worden, doch konnte bisher nur für die Tryptophan-Peroxydase eine sog. "Enzym-Induktion" - wie der Autor (51) die Aktivitätssteigerung nennt - nachgewiesen werden.

nicht spezifisch sind. So ist, z.B. bekannt, dass Hyperthyreotiker auch Atropin besser spalten (18). Im Falle der Lebererkrankungen dürfte die Aktivitätsveränderung für eine ganze Reihe von Fermenten zutreffen, deren Synthese durch die Leber erfolgt. Die Bildung der Cholinesterase soll in den Leberzellen eng mit der Albuminsynthese verbunden sein (1). Sinkt der Albuminspiegel (z.B. bei Infektionen), so ist auch gleichzeitig eine Abnahme der Cholinesteraseaktivität, wie übrigens auch jener der Procainesterase (TAUBMANN) festzustellen.

Ein Vergleich der Plasmaaktivität gegenüber Acetylcholin und Procain bei verschiedenen Tieren und beim Menschen ergab erhebliche Unterschiede. So spaltet Pferdeplasma Acetylcholin mehr als doppelt so schnell wie Menschenplasma (11); andererseits wird Procain durch Menschenplasma mit ungefähr fünf mal grösserer Intensität hydrolysiert als durch Pferdeplasma (79). Nach HAZARD (38) stehen die Vögel in ihrem Spaltungsvermögen gegenüber Procain an der Spitze der Tierreihe, Acetylcholin hingegen spalten sie nur mit sehr geringer Intensität (11) (12). Nach sorgfältiger Abwägung aller verfügbaren Argumente kommt auch TERP (79) in seiner Monographie zu dem Schluss: das wahrscheinlichste sei, dass die beiden Fermente "doch nicht ganz identisch sein können." Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit könnten wohl im gleichen Sinne verwertet werden. Denn sie lassen sich mit dem Ergebnis TAUBMANNS (74) jedenfalls nur dann in Einklang bringen, wenn man die Annahme einer Identität von Procain- und Plasmacholinesterase fallen lässt. Ist doch nicht einzusehen, weshalb sich die Aktivität des einen und selben Enzyms nur durch das eine, nicht aber auch durch das andere Substrat sollte steigern lassen, zumal nach KALOWS (47) Messungen die Affinität der Lokalanästhetica zur Plasmacholinesterase grösser sein soll, als zu irgend einem anderen Ferment.

Z U S A M M E N F A S S U N G

TAUBMANN und TRESSER (76) hatten gezeigt, dass sich das Spaltungsvermögen menschlichen Plasmas für Procain durch eine vorangehende Procaininjektion merklich steigern lässt. Sofern nun Procainesterase und Plasmacholinesterase identisch sein sollen, wurde die Überlegung ausgesprochen, dass gewisse Nachwirkungen therapeutischer Procaininjektionen ihre Erklärung in einer vermehrten Acetylcholinspaltung finden könnten. Es war aber bisher noch nicht geprüft worden, ob Procaininjektionen tatsächlich eine Aktivitätssteigerung der Plasmacholinesterase bewirken. Diese Untersuchung wurde von uns nachgeholt und folgendes gefunden:

Beim Kaninchen lässt sich die Aktivität der Plasmacholinesterase, die mittels verschiedener Methoden bestimmt wurde, durch Procainzufuhr nicht steigern. Dieses negative Ergebnis gilt sowohl für die intravenöse, die subkutane wie auch orale Zufuhr bei ein- und mehrmaliger Applikation (mit und ohne Adrenalin) und für alle geprüften Dosen.

Der Gehalt des Kaninchenplasmas an Procainesterase erwies sich als zu schwach, um die entnommenen Plasmaproben spektrophotometrisch gleichzeitig auch auf ihr Spaltungsvermögen für Procain prüfen zu können.

Ergänzend wurde das Verhalten der Plasmacholinesterase nach einmaliger Procaininjektion (Lokalanästhesie) in einigen Fällen auch beim Menschen geprüft und auch dabei keine Aktivierung gefunden.

In ihrer Gesamtheit sprechen diese Ergebnisse gegen die Annahme, dass Procainesterase und Plasmacholinesterase identisch sind.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- (1) Abderhalden, R.: Klinische Enzymologie, Thieme-Verl. Stuttg. 1958
- (2) Adams, D.H. and V.P. Whittaker: The Cholinesterase of Human Blood, I. The Specifity of the Plasma Enzyme and its Relation to the Erythrocyte Cholinesterase, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 3 (1949) S. 358
- (3) Adams, D.H.: The Specifity of the Human Erythrocyte Cholinesterase, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 3 (1949) p. 1
- (4) Adriani, J.: Lokalanaesthetica, *Klinische Wochenschrift* Jg. 36 Heft 11 (1958) S. 501
- (5) Albus: *Klin. Wschr.* (1939) 858, *Z. Exper. Med.* 108 (1941) 392 zit. n. R. Manche, W. Masuch u. G. Orzechowski (58)
- (6) Althoff, H.: Die Therapeut. Novocainanwendg. in der Inneren Medizin, Dresden-Leipzig 1947
- (7) Ammon, R.: *Klinische Wochenschrift* 20 (1941) 696 zit. n. K. Soehring (69) u. zit. n. Hoechst, Farbwerke (44)
- (8) Ammon, R. u. K. Zipf: *Klinische Wochenschrift* 20 (1941) 1176 zit. n. K. Soehring (69) u. G.K. Kraucher (53)
- (9) Antopol, W., L. Tuchmann and A. Schifrin: *Proc. Exper. Biol. and Med.* 36 (1937) 46; zit. n. W. Kalow (47)
- (10) Augustinsson, K.B.: Cholinesterases, A Study in Comparative Enzymologie, *Acta Physiologica Scandinavica*, Vol. 15, Suppl. 52 Stockholm 1948
- (11) Augustinsson, K.B. und G. Heimbürger: *Acta Physiologica Scandinavica* Bd. 30 (1953) S. 45
- (12) Augustinsson, K.B.: Acetylcholine-Esterase and Cholinesterase, The Enzymes by J.B. Summer and K. Myrbäck, Vol. I, Part I, (1950), Chapter 10 p. 443
- (13) Aslan, A.: Geriatrie in Rumänien, *Medizinische Klinik* 40 (1952) 1758
- (14) Aslan, A.: Eine neue Methode zur Prophylaxe u. Behandlg. des Alterns mit Novocain, *Die Therapiewoche* Jg. 7, Okt. 1956
- (15) Aslan, A.: Neue Erfahrungen über die verjüngende Wirkg. des Nov. (Stoff H₃) nebst experimentellen, klinischen u. statist. Hinweisen, *Die Therapiewoche* Jg. 8 Okt. 1957
- (16) Aslan, A. u. C. David: Ergebnisse der Novocain-Behandlg. bei dysmetabolischen Arthropathien, *Die Therapiewoche* Jg. 8, Okt. 1957

- (17) Beckmann, P.: Über die Möglichkeiten der intravenös. Verwendg. v. Nov. und der Hochdruckbehandlg. mit Melcain, Deutsche Medizinische Wochenschrift 75. Jg. Nr. 13 (1950) S. 426
- (18) Beutner, R.: Atropine Binding, Federal Proceedings II (1943) 74 zit. n. Manual of Pharmacology, Saunders 1948
- (19) Brodie, B.B., P.A. Lief and R. Poet: The Fate of Procaine in Man following its intravenous Administration and Methods for the Estimation of Procaine and Diethylaminoethanol, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 94 (1948) p. 359
- (20) Bruce: Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie 63 (1910) 424, zit. n. Hoechst (44)
- (21) Burgen, A.S.V. and C.A. Keele: Quantative Studies of Procaine Metabolism in the Cat, British Journal of Pharmacology and Chemotherapy Vol. 3 (1948) p. 128
- (22) Bürger, M. u. Schulz: Bedeutung der Biomorphose für Altern, Krankheit und Verjüngg., Die Therapiewoche Jg. 8, Okt. 1957
- (23) Cremerius, J. u. H. Curshmann: Zwischenfälle bei Novocaintherapie, Deutsche Medizinische Wochenschrift Jg. 75, Nr. 12 (1950) S. 398
- (24) David, S.: Biochem. und Physiolog. Alterskriterien und ihre Veränderungen im Laufe der Behandlg. als Rehabilitationsmerkmale, Die Therapiewoche Jg. 8, Okt. 1957
- (25) Delaunois, A.L. et H. Casier: Micro-Méthode Potentiométrique pour la Détermination de l'Activité des Cholinesterases, Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie Bd. 75 (1947) S. 371
- (26) Dittmar, F.: Dtsch. Gesdh. wes. 3 (1948) 44
- (27) Dittmar, F.: Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen über die Procainwirkg., Die Medizinische 13 (1952) S. 414
- (28) Dorn, W.: Über die Acetylcholinesterase, Materia Medica Nordmarck Juli/August 1957, S. 273
- (29) Eichholtz, F.: Die Anwendung von Novocain in der Inneren Medizin, Klinische Wochenschrift Jg. 28 Heft 45/46 (1950) S. 761
- (30) Fiessinger, N., R. Hazard, J. Ravasse and G. Charles: Bull. Acad. de Méd. 129 (1945) 558
- (31) Fleckenstein, A.: Der Anaesthesist 3 (1954) 15

- (32) Fuchs, H.: Mangel an Pseudocholinesterase - eine Kompl. bei der Bronchoskopie in Narkose und Apnose Der Anaesthetist Bd. 5 (1956) S. 140
- (33) Hagedorn: Diss., Leipzig 1947, zit. n. R. Mancke, W. Masuch u. G. Orzechowski (58)
- (34) Hauschild, F.: Das Diäthylaminoäthanol und seine Beziehgn. zum Novocain, Die Pharmazie Bd. 5, 5. Jg. Heft 3 (1950) S. 105
- (35) Hauschild, F.: Neuere pharmakolog.-chem. Deutungsmöglichkeiten der Novocainwirkg., Forschungen und Fortschritte Jg. 26, Nr. 17/18. Sept. 1950
- (36) Hazard, R. et C. Bonamy: Hydrolyse comparée, par le sérum sanguin, de la novocaïne (procaine), de quelques autres sels de para-aminobenzoyl-diäthylaminoäthanol et d'autres dérivés para-aminobenzoïques, Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie et de ses Filiales 141 (1947) p. 273
- (37) Hazard, R. et C. Bonamy: Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie 142 : 743 Jan. 1948
- (38) Hazard: La Procaine Réactif Pharmacologique et Biologique, Actualités Pharmacologiques, 1. Serie (1949)
- (39) Hazard, R.: Press Méd. 44 (1948) 529
- (40) Heilbrunn, L.V.: Grundzüge der Allgem. Physiologie, Hochschulbücher für Biologie Bd. 5, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1958
- (41) Heim, F.: Aerztliche Wschr. 3 (1948) 326, zit. n. W. Dorn (28)
- (42) Heim, F.: Über den Einfluss verschiedener Ester auf die fermentative Oxydation von Adrenalin u. Adrenalinderivaten, Naunyn-Schmiedebergs Archiv für Experimentelle Pathologie u. Pharmakologie Bd. 209 (1950) S. 181
- (43) Heinecker, R. u. I. Mayer: Das Verhalten der Serumcholinesterase nach Myokardinfarkt, Klinische Wochenschrift Jg. 35, Heft 7 (1957) S. 340
- (44) Hoechst, Farbwerke: Die Therapie mit Novocain, Schriftenreihe Arzneimittel "Hoechst", Band II
- (45) Huneke, F.: Med. Welt 2 (1928) 1013, zit. n. K. Soehring, zit. n. G.K. Kraucher (53)
- (46) Jenning: Z. Ärztl. Fortb. 23/24 (1944) 346
- (47) Kalow, W.: Journal of Pharmacology Bd. 104 (1952) S. 122, Hydrolyses of Local Anesthetics by Human Serum Cholinesterase

- (48) Kalow, W. and M.O. Maykut (Toronto): Journal of Pharmacology Bd. 1116 (1956) p. 418
- (49) Kirschner: Schmerz, Narkose, Anästh. 12 (1939) 49, zit. n. Hoechst (44)
- (50) Kisch, Koster, Strauss: Exp. Med. Surg. 1 (1943) 51, zit. n. K. Soehring
- (51) Knox, zit. n. Jones and Bonting, J. Pharm. 116 (1955) 144
- (52) Kohlrausch: Fortschr. d. Ther. 9 (1931) 281, zit. n. Hoechst (44)
- (53) Kraucher, G.K.: Die intravenöse Anwendung der Lokalanästhetika in der Inneren Medizin, Springer-Verl. Wien 1951
- (54) Krause, D.: Ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Novocains u. Panto-cains bei intravenöser Injekt., Naunyn-Schmiedbergs Archiv für Experiment. Path. und Pharmakolog. Bd. 213 (1951) S. 516
- (55) Kuschinsky: Med. Rdsch. 1947, 321, zit. n. R. Mancke, W. Masuch, G. Orzechowski (58)
- (56) Lüth, P.: Über die Allgemeinwirkungen des Procain in ihrem Zusammenhang mit dem Gehirnstoffwechsel, Ärztliche Forschung Jg. 13, Heft 4 (1959) S. 177
- (57) Lüth, P.: Welche Bedeutung hat die Aslansche Procaintherapie? Münchner Medizinische Wochenschrift Jg. 101 Heft 48 (1959) S. 220
- (58) Mancke, R., W. Masuch und G. Orzechowski: Klinische Erfahrungen mit der Novocaintherapie, Deutsche Medizinische Wochenschrift Jg. 76, Nr. 22 (1951) S. 737
- (59) Mancke, R. u. G. Orzechowski: Arch. exper. Path. 2 (1948) 205, zit. n. R. Mancke, W. Masuch u. G. Orzechowski (58) u. n. P. Beckmann (17)
- (60) Marchand, J.F.: Microtests for Cholinesterase, The Journal of the American Medical Association (Chicago-Illinois) 149 : 738 (1952)
- (61) Marx, H. u. H. Hasse: Die Wirkg. des Diäthylaminoäthanols auf den Kreislauf, Zeitschrift für Kreislaufforschg. Bd. 39 (1950) S. 206
- (62) Moench, A.: Ärztliche Forschg. 1, 303-309, 336-346 (1947), zit. n. K. Soehring u. M. Pape (71)
- (63) Muschaweck: Archiv für Experiment. Pathol. u. Pharmakol. 212 (1950/51) 30
- (64) Obladen, A. u. E. u. E. Wagner: Über die Verwendung von Nov. in der intravenösen Allgemeinanästhesie, Der Anaesthesist (1957) Bd. 6, 373-376
- (65) Parhorn, J.C.: Auffassungen über die Therapie des Alterns, Die Therapie-woche Jg. 8, Okt. 1957

- (66) Pipkorn: Z. ges. inn. Med. 16 (1948), zit. n. G.K. Kraucher (53)
- (67) Rosenberg, B., H.J. Kayden, P.A. Lief, L.C. Mark, J.M. Steele and B.B. Brodie: Studies on Diethylaminoethanol, The Journal of the Pharmacology and Experimental Therapeutics Vol. 95 (1949) S. 18
- (68) Schaumann: Arch. f. Experiment. Path. u. Pharmakol. 190 (1938) 30
- (69) Soehring, K.: Novocain - seine Wirkung und Anwendung,
 I Die Pharmazie Bd. 4, 4. Jg. Heft 7 (1949) S. 319
 II Die Pharmazie Bd. 4, 4. Jg. Heft 8 (1949) S. 355
 III Die Pharmazie Bd. 4, 4. Jg. Heft 9 (1949) S. 399
- (70) Soehring, K.: Brit. Med. J. 4575, 533, zit. n. K. Soehring (69)
- (71) Soehring, K. und M. Pape: Über den Nachweis von Novocain in Körperflüssigkeiten, Die Pharmazie Bd. 4 4. Jg., Heft 2, (1949) S. 64
- (72) Spiess: Münchener Medizinische Wochenschrift 8 (1906) zit. n. Hoechst (44) u. K. Soehring (69)
- (73) Starkenstein, E.: Lehrbuch d. Pharmakologie, Toxikologie u. Arzneiverordnung, Leipzig u. Wien 1938
- (74) State, D., O.H. Wangessteen: Journal of the American Medical Association 130 (1946) 990
- (75) Stedmann, E., E. Stedmann, A.C. White: Biochemical Journal 27 (1933) S. 1055
- (76) Taubmann, G. und E. Tresser: Spaltung des Novocains durch Serumesterase, Deutsche Medizinische Wochenschrift Jg. 78, Nr. 10 (1953) S. 320-322
- (77) Taubmann, G.: Schäden durch Lokalanästhetika, Deutsche Medizinische Wochenschrift Jg. 76 Nr. 11 (1951) S. 339
- (78) Taubmann, G. und G. Jung: Toxikologische Untersuchungen zur Praxis der Lokalanästhesie, Naunyn-Schmiedebergs Archiv für Experiment. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 156 (1930) S. 18
- (79) Terp: Prokain, Munksgaard-Kopenhagen 1953
- (80) Trauner: Arch. Klin. Chir. 205 (1943) 1
- (81) Wachsmann: Dtsch. Med. Wschr. 21 (1931) 889
- (82) Woerner: Dtsch. Ges. Wesen 13 (1949) 586
- (83) Zipf, H.: Lokalanästhetika im Lichte ihrer Allgemeinwirkungen, Arzneimittelforschung 7 (1957) 529-543

Herrn Professor Dr. R. von WERZ bin ich für die
Überlassung des Themas und für die Unterstützung
bei der Ausarbeitung der Arbeit zu ganz besonde-
rem Dank verpflichtet.

L E B E N S L A U F

Am 22. März 1934 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. med. Wilhelm Schley in Mülheim a.d. Ruhr geboren.

Ich besuchte das Humboldt-Gymnasium in Essen und legte dort 1955 die Reifeprüfung ab.

Mein Medizinstudium begann ich in Münster, wo ich 1957 das medizinische Vorexamen bestand.

Im Sommer 1961 unterzog ich mich in München mit Erfolg der medizinischen Staatsprüfung.

